ラットの血清コレステロール濃度に及ぼす 緑葉タンパク質給与の影響

曹 永 守, 堀 米 隆 男
坂 口 英, 内 田 仙 二

岡山大学農学部

Effect of Feeding of Leaf Proteins on Serum Cholesterol Concentration in Rats

Young-Su CHO, Takao HORIGOME, Ei SAKAGUCHI
and Senji UCHIDA

Faculty of Agriculture, Okayama University, Okayama 700

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 41, 127~132 (1988)

Leaf proteins (LPs) were prepared by heating the green juice from Italian ryegrass and alfalfa at 80-85°C and were compared with casein and soybean protein isolate for their hypocholesterolemic action in Wistar male rats. Each protein source was incorporated into a cholesterol-free, low-fat diet to provide a protein level of 20%. The values of serum total and LDL-cholesterol in rats fed Italian ryegrass and alfalfa LPs were significantly lower than those of rats fed casein and were comparable to those of rats fed soybean protein. *p*-Coumaric, ferulic and caffeic acids and coumestrol, which were presumed to be contaminants in LPs, had no lowering effect on serum total and LDL-cholesterol. In addition, it was shown that the ratios of Arg/Lys and Met+Cys/Gly of both the LPs were very close to those of soybean protein. These data suggest that both of the LPs tested appear to function in a similar way to soybean protein in their hypocholesterolemic action.

(Received August 22, 1987)

アテローム性動脈硬化は血清コレステロール (Chol), とくに低密度リポタンパクコレステロール (LDL-Chol) 濃度と正の相関があることは広く認められているところである。一方, 大豆タンパク質の摂取は, 高脂血症患者の血清 Chol を低下させることが知られるようになり¹⁻³⁾, 動脈硬化の防止の点から大豆タンパク質に対する関心が高まっている。

さて, 牧草から繊維部分を分離して得られる緑葉タンパク質 leaf protein (LP) は製造方法が良ければ大豆タンパク質に匹敵する栄養価を有していることが明らかにされ⁴⁾, また, 世界的なタンパク質資源の逼迫状況から見て, LP を食品タンパク質として利用することが望まれている。それゆえ, LP の栄養特性を明らかにすることは意義があると考えられるので, 上記の状況にかんがみ, LP の血清 Chol に対する作用について, ラットを用い, カゼイン, 大豆タンパク質と比較検討した。ま

た, LP にはコーヒー酸等のフェノールカルボン酸類が混在していることが推測され, また, アルファルファ LP にはクメストロールが含まれることが報告されているので^{5,6)}, フェノールカルボン酸およびクメストロールの血清 Chol 降下作用の有無についても検討した。

実験方法

1. LP の調製

LP の調製に用いた牧草はイネ科のイタリアンライグラス (*Lolium multiflorum* Lam.) とマメ科のアルファルファ (*Medicago sativa* L.) である。イタリアンライグラスは出穂前, アルファルファは開花前の茎葉を供した。生草をカッターにて切断後, 材料草の重量の約半量の水を加えながらチョッパーにて破碎し, 破碎物を麻袋に入れ, 手動圧搾機にて圧搾して緑色の汁液と繊維部分のプレスケーキとに分離した。緑葉汁液は pH を調整することなく, 80~85°C で 10 分間加熱して, LP を凝固させた。4°C の冷所に一夜放置後, LP カードをナイロ

Table 1. Composition of experimental diets (%).

Ingredient	Italian ryegrass leaf protein diet	Alfalfa leaf protein diet	Casein diet	Soybean protein diet
Italian ryegrass LP	29.3	—	—	—
Alfalfa LP	—	29.5	—	—
Casein	—	—	22.8	—
Soybean protein	—	—	—	24.0
Corn oil	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral mixture ^{a)}	2.2	2.0	3.3	3.1
Vitamin mixture ^{b)}	1.0	1.0	1.0	1.0
Cellulose powder	0	0	3.0	2.0
Sucrose	66.5	66.5	68.9	68.9

^{a)} Phillips-Hart's salt mixture.²⁸⁾

^{b)} Vitamin mixture (per 1 g): VB₁ nitrate 0.2 mg, VB₂ 0.3 mg, nicotinamide 2 mg, pyridoxine-HCl 1 mg, Ca pantothenate 1 mg, VC 7.5 mg, DL- α -tocopherol acetate 5 mg, inositol 10 mg, choline chloride 0.1 g, retinol palmitate 500 I.U., ergocalciferol 100 I.U., VK₃ 5 mg, folic acid 0.1 mg, cyanocobalamine 0.5 μ g, by reference to NRC-allowances.²⁹⁾

ン濾布を敷いたブフナーロート上に移し吸引し、できる限り水分を除去した。得られた LP カードから、水分、リピド、色素類を除くとともに、アルファルファ LP の場合には、さらにサポニンを除去するため、LP カードをアセトンにて室温で繰り返し抽出し、試料として用いた。

2. 実験動物と飼育法

1) LP の動物試験 5週齢のウィスター系雄ラット (日本クレア) を 3 日間、飼育用飼料 (日本クレア, CE-2) で飼育後、各群 5 頭ずつに分け、個別のゲージで 21 日間、試験飼料で飼育した。飼育環境は温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ とし、7:00 に点灯、19:00 に消灯するように照明をセットした。試験飼料は粗タンパク質含量が 20% となるように、それぞれのタンパク質試料を混合した。タンパク質試料として LP のほか、カゼイン (ハムマーステイン, メルク社製) および分離大豆タンパク質 (フジプロ R, フジビュリナプロテイン社製) を用いた。なお、大豆タンパク質はサポニン除去のため 80% エタノールにて室温で 4 回抽出したものを供した。飼料組成は Table 1 に示すとおりであるが、セルロース粉末およびミネラル混合物の量はタンパク質試料の可溶性無窒素成分および粗灰分の含量 (Table 2) によって調節した。飼育期間の最後の 3 日間の糞を採集し、タンパク質の見かけの消化率を測定した。また、最終日の夜 9 時に残した飼料を撤去し、約 12 時間絶食後、エーテル麻酔したラットの頸静脈より採血して分析に供した。イタリアンライグラス LP とアルファルファ LP の動物試験は実験 1, 2 として、それぞれ独立して実施した。

2) フェノールカルボン酸およびクメストロールの動

物試験 試験に供したフェノールカルボン酸は *o*-クマール酸、フェルラ酸、コーヒー酸の 3 種類である。使用ラットおよび飼育条件は LP の動物試験と同じである。対照飼料はカゼイン 20.0%, コーン油 1.0%, ミネラル混合物 4.0%, ビタミン混合物 1.0%, セルロース粉末 2.0%, ショ糖 72.0% よりなる無コレステロール飼料であり、この飼料に、フェノールカルボン酸をそれぞれ 0.2%, クメストロールを 50 ppm 混合した 4 種類の試験飼料を調製した。飼育期間、採血方法なども、LP の場合と同じである。

3. 化学分析および試薬

血清中の総 Chol は Pearson らの方法⁷⁾、高密度リポタンパク-Chol (HDL-Chol) はヘパリン・マンガン沈澱法による HDL-Chol テスト・キット (和光純薬)、トリグリセリドは酵素法によるトリグリセリド G テスト・キット (和光純薬) によって測定した。LDL-Chol は総 Chol より HDL-Chol を差し引いて求めた。肝臓脂質の抽出は Kates の方法⁸⁾ により行い、最終クロロホルム溶液について Pearson らの方法⁷⁾ により総 Chol を測定した。動物試験に用いた *o*-クマール酸、フェルラ酸、コーヒー酸は東京化成の特級市販品、クメストロールは Pfaltz & Bauer 社 (U.S.A.) 製品である。タンパク質試料のアミノ酸分析は既報⁹⁾ のとおり行った。粗タンパク質、粗灰分等は常法⁹⁾ によった。

4. 有意差検定

平均値間の有意差検定は分散分析 (*F*-検定) を行い、個々の群間の有意差の検定は Tukey の方法により行った。

Table 2. Composition of protein sources.

Protein source		Italian ryegrass leaf protein	Alfalfa leaf protein	Milk casein	Soybean protein
Moisture	(%)	8.72	10.42	5.63	6.97
Nitrogen*	(%)	11.98	12.12	14.76	15.72
Conversion factor		6.25	6.25	6.38	5.71
Crude protein*	(%)	74.88	75.75	94.17	89.76
Crude ash*	(%)	6.80	7.85	3.28	4.19
Nitrogen-free extract*	(%)	18.32	16.40	2.55	6.05
Arginine	(g/16 g N)	6.3	6.3	4.0	7.2
Lysine	(g/16 g N)	6.2	6.1	8.1	6.4
Arg/Lys ratio		1.02	1.03	0.49	1.13
Methionine	(g/16 g N)	2.4	2.1	3.0	1.2
Cystine	(g/16 g N)	1.2	0.9	0.5	1.3
Glycine	(g/16 g N)	5.6	5.8	2.1	4.4
Met+Cys/Gly ratio		0.64	0.52	1.67	0.57

* Value on dry matter basis.

実験結果および考察

1. タンパク質試料の化学組成

Table 2 に実験に用いたタンパク質試料の組成を示した。イタリアンライグラス、アルファルファ LP は乾物中、粗タンパク質をそれぞれ 74.88, 75.75% 含み、LP 試料としては粗タンパク質含量が高いが、カゼイン、大豆タンパク質よりはかなり低い。これらの LP 試料には粗繊維、粗脂肪はほとんど含まれていないので、粗タンパク質、粗灰分以外の成分は可溶性無N物に相当する。しかし、LP は程度の差があるが褐変していること、LP のエタノール抽出液の吸収スペクトルは 300~330 nm に吸収を有することから、コーヒー酸、 α -クマール酸などのフェノールカルボン酸の存在が推測される。したがって LP の可溶性無N物画分には種々のフェノール性化合物が含まれると考えられる。つぎに、タンパク質の Chol 降下作用にアミノ酸組成、とくに Arg/Lys 比が関連をもっていることが報告されているが¹⁰⁻¹²⁾、この点から見ると両 LP の Arg/Lys 比が 1.02, および 1.03 で大豆タンパク質 (1.13) に近い。また、グリシンと含硫アミノ酸との相対的含量も血清 Chol 降下因子の一つとする報告も多いが¹³⁻¹⁵⁾、この点においても、Table 2 に見られるとおり両 LP とも大豆タンパク質に近い。なお、LP の制限アミノ酸はカゼイン、大豆タンパク質と同じく、メチオニンであるが¹⁶⁾、飼料中、タンパク質レベル 20% とした場合、メチオニンおよび含硫アミノ酸の必要量を満たすことになるので、ラットの成長におよぼす制限アミノ酸の影響はないものとする。

2. LP の血清コレステロール降下作用

Table 3 には実験 1 および 2 の動物試験の結果を示した。実験 2 の大豆タンパク質群の結果は 2 頭の平均で参考値として示した。実験 1 のイタリアンライグラス LP、カゼイン、大豆タンパク質 3 群間の飼料摂取量、体重増加量には有意差がなかったが、実験 2 においては、アルファルファ LP 群の飼料摂取量、体重増加量はカゼイン群に比し有意に低かった。アルファルファ LP 群の摂取量の低い理由は不明であるが、この摂取量の低いことと、後述するようにタンパク質消化率の低いことが体重増加量の少ない原因と考えられる。見かけのタンパク質消化率は実験 1, 2 を通して LP 群が最も低く、カゼイン群が最も高かった。LP の消化率の低い理由は、おそらくタンパク質自体の性質に基づくというより、混在物質の影響によるものと考えられ、とくにアルファルファ LP の消化率の低い原因は比較的、熱に安定なトリプシンインヒビターの混在によると推測される¹⁷⁾。つぎに、血清 Chol についてみると、実験 1, 2 ともに LP 群の総 Chol および LDL-Chol はカゼイン群より有意に低く、大豆タンパク質群に近かった。HDL-Chol はカゼイン群が高いが、数値のばらつきが大きく、実験 1, 2 ともに LP 群とは有意差が認められなかった。このように LP には動脈硬化症と正の相関関係のある総 Chol, LDL-Chol 降下作用が認められた。Neves ら¹⁸⁾ はアルファルファ LP をラットに 28 日間給与し、血清 Chol 降下作用を認めることができなかったと報告している。しかし、Neves らの用いた試験飼料は低タンパク質 (飼料中 10%) であるとともに大豆油を 10% 含んでお

Table 3. Body-weight gain, protein digestibility and serum and liver lipids of rats given leaf protein, casein or soybean protein (Mean values with their S.D. for five rats/group).

Dietary protein	Experiment 1			Experiment 2		
	Italian ryegrass leaf protein	Casein	Soybean protein	Alfalfa leaf protein	Casein	Soybean protein
Feed intake (g/21 days)	345±18	327±12	345±3	279± 4 ^{a)}	287± 3 ^{b)}	288*
Weight gain (g/21 days)	120.4± 6.7	116.3± 5.7	110.3± 5.2	76.3±2.1 ^{a)}	96.5± 5.5 ^{b)}	77.0
Protein digestibility (%)	94.7± 0.2 ^{a)}	99.6± 0.1 ^{c)}	98.6± 0.1 ^{b)}	82.4± 1.3 ^{a)}	97.9± 0.3 ^{b)}	92.5
Serum lipids (mg/dl)						
Total cholesterol	102.3±16.1 ^{a)}	143.4±17.5 ^{b)}	90.8± 2.8 ^{a)}	97.1± 4.1 ^{a)}	142.1±14.0 ^{b)}	95.0
HDL-cholesterol	43.0±11.3 ^{a)b)}	63.7±14.1 ^{b)}	44.8± 5.6 ^{a)}	34.9± 9.2	49.7± 7.1	33.6
LDL-cholesterol	59.2± 8.5 ^{b)}	79.7±12.1 ^{c)}	45.9± 4.8 ^{a)}	62.2± 4.4 ^{a)}	92.4± 8.0 ^{b)}	61.4
Triglyceride	85.9±24.9 ^{b)}	58.5±16.9 ^{a)b)}	47.7±11.1 ^{a)}	104.3±20.2	136.6±33.1	99.8
Liver, wet weight (g/100 g body-wt.)	2.96±0.03 ^{a)}	3.78±0.22 ^{b)}	4.30±0.78 ^{b)}	3.42±0.13 ^{a)}	4.04±0.03 ^{b)}	4.94
Liver lipid						
Cholesterol (mg/g)	2.27±0.10 ^{b)}	2.54±0.23 ^{b)}	1.20±0.49 ^{a)}	1.94±0.15	2.13±0.12	1.33
Cholesterol (mg/100 g body-wt.)	6.71±0.65 ^{a)}	9.60±1.33 ^{b)}	5.16±1.10 ^{a)}	6.63±1.03 ^{a)}	8.60±0.65 ^{b)}	6.57

^{a)b)c)} Values with different superscripts in the same horizontal line of each experiment are significantly different at $p<0.05$. * Mean value for two rats.

り、タンパク質の Chol 降下作用を試験するには不適当な条件¹⁹⁾であったために、われわれの結果と異なるものとなったと考えられる。一方、Sautier ら²⁰⁾は同じくアルファルファ LP をラットについて試験し、タンパク質 20%、コーン油 5% の飼料組成で、有意差はないものの LP に血清 Chol を降下させる傾向のあることを報告している。なお、アルファルファ LP 群の体重増加量は、前述したとおりカゼイン群のそれに対し約 20% 少なく、このことが血清 Chol の低レベルの原因となっているとも考えられる。しかし、小麦グルテンを等量含む飼料を給与し、体重増加量に大きな差異を生じさせた場合でも、ラットの血清 Chol 濃度に有意差を生じるほどの影響を与えなかった報告²¹⁾もあり、また、Carroll²²⁾は、ウサギに種々の飼料を給与して行った実験であるが、体重増加量と血清 Chol 濃度とは関連ないと述べている。これらの報告を参考にして考えれば、今回の実験の体重増加量の差異は、それほど極端ではないので、アルファルファ群の血清 Chol の降下は主として LP の作用によるものと判断される。肝臓の湿重量は実験 1, 2 を通じ、LP 群が他の 2 群に対し有意に低く、また、カゼイン群と大豆タンパク質群の間では差異は認められない。また、肝 Chol 濃度については、LP 群とカゼイン群の間では有意差はなく、大豆タンパク質群は他の 2 群よりも有意に低い。しかし、肝 Chol 総量で比較すると、実験

1 ではカゼイン群が他の 2 群に対し有意に高くなった。LP 群は大豆タンパク質群より高いが、有意ではない。この傾向は実験 2 でも認められる。これらのことは、肝 Chol 総量と血清 Chol 濃度と関連のあることを示すとともに、LP と大豆タンパク質の血清 Chol 降下作用の機構に何らかの類似性のあることをうかがわせる。

3. フェノールカルボン酸、クメストロールの血清コレステロールに対する作用

α-クマール酸、フェルラ酸、コーヒー酸およびクメストロールを無コレステロール・低脂肪飼料に混合して試験を試みた結果を Table 4 に示した。3 種類のフェノールカルボン酸を飼料に 0.2%、クメストロールを 50 ppm 混合した場合には、対照群に比べ飼料摂取量は、いずれの化合物給与群においても差異はなく、フェルラ酸群をのぞき体重増加量にも低下がみられない。Jung と Fahey は²³⁾、α-クマール酸、あるいはフェルラ酸をラットに給与した場合、飼料に 0.5% 添加により、すでに体重増加量が減少し、1.5% 添加により摂取量が低下するが、2.0% 添加でも乾物消化率、タンパク質消化率は低下しないことを報告している。今回の実験では消化率は測定していないが、これらのことから考え、フェルラ酸 0.2% による体重増加量の低下は何らかの代謝障害によると推察される。なお、肝湿重量にはすべての群にわたって有意差は認められなかった。つぎに、血清 Chol に対する影

Table 4. Body-weight gain, feed intake, liver weight and serum lipids of rats given some phenolic acids and coumestrol (Mean values with their S.D. for five rats/group).

Treatment	Control	<i>p</i> -Coumaric acid 0.2%	Ferulic acid 0.2%	Caffeic acid 0.2%	Coumestrol 50 ppm
Feed intake (g/21 days)	247±2	250±1	247±2	249±1	248±3
Weight gain (g/21 days)	77.6±1.7	76.5±3.1	72.8±2.0*	77.7±2.1	74.7±3.3
Liver weight (g/100 g body weight)	4.77±0.25	4.56±0.12	4.84±0.22	4.48±0.29	4.46±0.32
Serum lipids (mg/dl)					
Total cholesterol	119.7±18.8	119.4±12.5	134.5±15.2	115.6±4.7	129.1±17.0
HDL-cholesterol	36.1±5.4	28.2±6.3	34.0±8.4	24.6±2.4*	32.1±4.5
LDL-cholesterol	83.6±14.7	91.2±16.2	100.5±6.7	91.5±5.6	97.0±12.5

* Significantly different from the value of control group ($p<0.05$).

響をみると、フェルラ酸群の総 Chol に上昇の傾向がみられるが、各群の間に有意差は認められない。また、コーヒー酸群の HDL-Chol は対照群に対し有意に低い。しかし、他の群の HDL-Chol 値には有意差はなく、フェノールカルボン酸 0.2%、クメストロール 50 ppm 以下の含量では血清 Chol に対する影響はほとんどないと考えられる。Sharma²⁴⁾ は Chol 1% 含有飼料に *p*-クマール酸を 0.15% 添加し、ラットに 12 週間にわたって給与したところ、血清総 Chol が低下したことを報告している。Chol をラットに給与すると肝臓における酢酸からの Chol 合成が著しく抑制され、さらに長期間の Chol 投与はメバロン酸からの合成にも大きく影響することが知られているので²⁵⁾、飼料組成と飼育期間の差異が Sharma とわれわれの結果に違いを生じた原因と考えられる。また、Béguin と Kincaid は²⁶⁾ 脱脂大豆からなる無 Chol 飼料にクメストロールを 50 ppm 混合した飼料で、ニワトリヒナを 21 日間飼育したところ血漿 Chol が低下したと述べており、われわれのラットによる実験とは異なる結果となっている。このように、フェノールカルボン酸およびクメストロールに血清 Chol 降下作用があるとする報告もあるが、今回のわれわれの実験条件では降下作用は認められなかった。また、フェノールカルボン酸の毒性²³⁾、アルファルファ LP に含まれるクメストロールの測定値²⁷⁾から考え、今回飼料へ添加したそれぞれの化合物の量は LP に含まれるフェノールカルボン酸、あるいはクメストロール量を十分超えていると推定される。それゆえ、われわれの結果に基づいて論ずれば、LP にフェノールカルボン酸やクメストロールが混在しているとしても、それらの影響をほとんど無視できるものであり、LP の Arg/Lys 比、Met+Cys/Gly 比が大豆タンパク質のそれらと近似していると考え合わせ、LP の血清 Chol 降下作用は大豆タンパク質に類

似のものと判断される。なお、イタリアンライグラス、アルファルファ両 LP とともに血清 Chol 降下作用を示したことは、LP のアミノ酸組成が原料の草種により大きく変動しない²⁷⁾ことから理解される。

要 約

イタリアンライグラスおよびアルファルファから緑葉タンパク質 (LP) を調製し、血清 Chol 降下作用について、カゼイン、大豆タンパク質と比較検討した。これらタンパク質試料を、タンパク質レベル 20% になるように無 Chol・低脂肪飼料に混合し、ウィスター系雄ラットに 21 日間給与した。両 LP 給与群とも、血清総 Chol、LDL-Chol 濃度はカゼイン群に対し有意に低く、大豆タンパク質群に近かった。肝臓の Chol 総量は大豆タンパク質群が最も少なく、つづいて LP 群で、カゼイン群が最も大きく、肝 Chol 総量と血清 Chol 濃度とは関連あるものと思われた。LP に混在していると推測された *p*-クマール酸、フェルラ酸、コーヒー酸を無 Chol・低脂肪飼料に 0.2% 添加した場合およびアルファルファ LP に混在すると考えられるクメストロールを 50 ppm 添加した場合、ラットの血清 Chol 濃度には影響をおよぼさなかった。また、両 LP の Arg/Lys 比、Met+Cys/Gly 比は大豆タンパク質のそれらに近似していた。これらの結果から、イタリアンライグラスおよびアルファルファ LP の血清 Chol 降下作用は大豆タンパク質と類似のものと判断された。しかし、LP の粗タンパク質含量、見かけの消化率が低いことなど今後検討すべき点も示された。

本研究は文部省科学研究費補助金 (No. 59360036, 代表者: 田先威和夫) による研究の一部である。

文 献

- 1) Sirtori, C.R., Agradi, E., Conti, F., Mantero, O. and Gatti, E. : *Lancet*, **1**, 275 (1977)
- 2) Wolfe, B., Giovanetti, P., Cheng, D.C.H., Roberts, D.C.H. and Carroll, K.K. : *Nutr. Rep. Int.*, **24**, 1187 (1981)
- 3) Goldberg, A.P., Lim, A., Kolar, J.B., Grundhauser, J.J., Steinke, F.H. and Schonfeld, G. : *Atherosclerosis*, **43**, 355 (1982)
- 4) Horigome, T. and Uchida, S. : *Jpn. J. Zootech. Sci.*, **51**, 429 (1980)
- 5) Knuckles, B.E., Fremery, D. and Kohler, G.O. : *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 1177 (1976)
- 6) Rambourg, J.C. and Monties, B. : *Qualitas Plantarum*, **33**, 169 (1983)
- 7) Pearson, S., Stern, S. and McGavack, T.H. : *Anal. Chem.*, **25**, 813 (1953)
- 8) 堀 太郎, 杉田陸海 : 生化学実験講座 3. 脂質の化学 (日本生化学会編), 12 (1974), 東京化学同人 (東京)
- 9) 永原太郎, 岩尾裕之, 久保彰治 : 食品分析法, 107 (1964), 柴田書店 (東京)
- 10) 沖田卓雄, 菅野道廣 : 栄養と食糧, **32**, 297 (1979)
- 11) Kritchevsky, D., Tepper, S.A., Czarnecki, S.K. and Klurfeld, D.M. : *Atherosclerosis*, **41**, 429 (1982)
- 12) Park, M.S. and Liepa, G. : *J. Nutr.*, **112**, 1892 (1982)
- 13) Katan, M.B., Vroomen, L.H.M. and Hermus, R.J.J. : *Atherosclerosis*, **43**, 381 (1982)
- 14) Sugiyama, K., Ozawa, M. and Muramatsu, K. : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **31**, 121 (1985)
- 15) Sugiyama, K., Kushima, Y. and Muramatsu, K. : *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3455 (1985)
- 16) 堀米隆男 : 日畜会報, **53**, 1 (1982)
- 17) Humphries, C. : *J. Sci. Food Agric.*, **31**, 1225 (1980)
- 18) Neves, L.B., Clifford, C.K., Kohler, G.O., Fremery, D.D., Knuckles, B.E., Cheowtirakul, C., Miller, M.W., Weir, W.C. and Clifford, A.J. : *J. Nutr.*, **110**, 732 (1980)
- 19) Nagata, Y., Imaizumi, K. and Sugano, M. : *Br. J. Nutr.*, **44**, 113 (1980)
- 20) Sautier, C., Flament, C., Doucet, C. and Suquet, J.P. : *Nutr. Rep. Int.*, **34**, 1051 (1986)
- 21) Bassat, M. and Mokady, S. : *Br. J. Nutr.*, **53**, 25 (1985)
- 22) Carroll, K.K. : *Federation Proc.*, **41**, 2792 (1982)
- 23) Jung, H.J.G. and Fahey, G.C. : *J. Nutr.*, **113**, 546 (1983)
- 24) Sharma, R.D. : *Lipids*, **14**, 535 (1979)
- 25) Gould, R.G. and Swyryd, E.A. : *J. Lipid Res.*, **7**, 698 (1966)
- 26) Béguin, D.P. and Kincaid, R.L. : *Poultry Sci.*, **63**, 686 (1984)
- 27) Byers, M. : Leaf Protein Concentrates (Telek, L. and Graham, H.D., eds.), 145 (1983), AVI Publishing Company, Inc. (Westport, U.S.A.)
- 28) Phillips, P.H. and Hart, E.B. : *J. Biol. Chem.*, **109**, 657 (1935)
- 29) National Research Council : Nutrient Requirements of Laboratory Animals, 2nd revised ed. (1972) National Academy of Sciences (Washington, D.C.)

(1987 年 8 月 22 日受理)